

Nalaz policikličkih aromatskih ugljikovodika i kemijski sastav dimljenih i nedimljenih kuhanih sireva



Polycyclic aromatic hydrocarbon content and chemical composition of home-made (non)smoked cooked cheeses

Zdolec, N.,* V. Mežnarić, N. Martinec, A. Čížmak, V. Pažin

Sažetak

38

U radu je istražen kemijski sastav dimljenih i nedimljenih kuhanih sireva te količina policikličkih aromatskih ugljikovodika. Proizvedene su tri serije kuhanog sira, dimljenog kuhanog sira, kuhanog sira s ljutom paprikom i dimljenog kuhanog sira s ljutom paprikom. Određivana je količina masti, bjelanjčevina, vlage, pepela i vlakna standardnim metodama te koncentracija policikličkih aromatskih ugljikovodika plinskom kromatografijom uz detekciju pomoću spektrometra masa (GC-MS/MS). U nedimljenim kuhanim sirevima utvrđeno je prosječno $17,84 \pm 2,46$ % bjelanjčevina, $23,01 \pm 1,99$ % masti, $46,62 \pm 13,09$ % vlage, $1,11 \pm 0,24$ % vlakana te $4,00 \pm 0,43$ % pepela. Vrijednosti navedenih parametara u dimljenim kuhanim sirevima bile su $19,90 \pm 0,89$ % ($P < 0,05$), $23,94 \pm 2,98$ %, $47,80 \pm 4,31$ %, $1,00 \pm 0,21$ %, $3,95 \pm 0,76$ i $3,95 \pm 0,76$ %. Prosječna količina PAH spojeva u nedimljenim i dimljenim uzorcima iznosila je $17,85 \pm 8,85$ $\mu\text{g/kg}$ odnosno $311,765 \pm 269,2$ $\mu\text{g/kg}$ ($P < 0,01$). Od 16 mjerenih PAH spojeva utvrđeni su naftalen, acenaftalen, fluoren, fenantren, fluoranten. U dva uzorka dimljenih sireva utvrđen je benz[a]antracen u niskim koncentracijama ($0,359$ $\mu\text{g/kg}$ i $0,166$ $\mu\text{g/kg}$). Koncentracija benzo[a]pirena bila je u svim uzorcima ispod granice kvantifikacije. Količina PAH spojeva bila je u pozitivnoj korelaciji s količinom masti u dimljenim sirevima ($R = 0,91$) te u negativnoj korelaciji s količinom vlage ($R = -0,87$). Dobiveni rezultati upućuju na nizak rizik od unosa javnozdravstveno važnih PAH spojeva nakon konzumacije dimljenih kuhanih sireva iz domaćinstva.

Ključne riječi: kuhani sir, tradicijski proizvod, dimljenje, PAH

Abstract

In this study the chemical composition and polycyclic aromatic hydrocarbon content was evaluated of home-made smoked and non-smoked cooked cheeses. Three batches of cooked cheese, smoked cooked cheese, cooked cheese with hot pepper, and smoked cooked cheese with hot pepper were produced. Sam-

Dr. sc. Nevijo ZDOLEC, dr. med. vet., izvanredni profesor, Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu; dr. sc. Vesna MEŽNARIĆ, dipl. ing. kem., znanstvena suradnica, Bioinstitut d.o.o., Čakovec; Nenad MARTINEC, dipl. ing., Bioinstitut d.o.o., Čakovec; Anamarija ČIŽMAK, diplomantica, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Valerij PAŽIN, dr. med. vet., doktorand, Lidl Hrvatska. Dopolisni autor: nzdolec@vef.hr

ples were tested for their content of proteins, fat, moisture, ash and fiber by standard chemical methods. The PAH content was measured by gas chromatography, coupled with mass spectrometry detection (GC-MS/MS). The non-smoked cheeses showed the following composition: 17.84 ± 2.46 % of proteins, 23.01 ± 1.99 % of fat, 46.62 ± 13.09 % of moisture, 1.11 ± 0.24 % of fibers and 4.00 ± 0.43 % of ash. The average values measured in the smoked cheeses were 19.90 ± 0.89 % ($P < 0.05$), 23.94 ± 2.98 %, 47.80 ± 4.31 %, 1.00 ± 0.21 %, 3.95 ± 0.76 and 3.95 ± 0.76 %, respectively. An average PAH concentration of 17.85 ± 8.85 $\mu\text{g/kg}$ and 311.765 ± 269.2 $\mu\text{g/kg}$ ($P < 0.01$) was found in non-smoked and smoked cheeses, respectively. Among the 16 PAH tested, only naphthalene, acenaphthylene, fluorene, phenanthrene, fluoranthene were found. Two samples were positive for benzo[a]anthracene in low concentrations (0.359 $\mu\text{g/kg}$ and 0.166 $\mu\text{g/kg}$). Benzo[a]pyrene content was below the limit of quantification in all samples. PAH concentrations correlated positively with fat content ($R = 0.91$), and negatively with cheese moisture ($R = -0.87$). These results indicate the low risk from hazardous PAHs from consumption of traditional smoked cooked cheeses.

Key words: cooked cheese, traditional product, smoking, PAH

Uvod

Kuhani sir ima dugu tradiciju proizvodnje u kontinentalnom dijelu Hrvatske, a danas postoje brojne varijante u kojima se primjenjuje prirodno tradicionalno dimljenje te različiti začini (Čižmak i sur., 2018.). Poznato je da prirodni dim pridonosi razvoju povoljnih senzorskih svojstava dimljene hrane poput arome, okusa, boje te također ima antimikrobna i antioksidacijska svojstva (Feiner, 2006.). Međutim dim se ocjenjuje u konceptima sigurnosti hrane kao potencijalan izvor štetnih spojeva kao što su policiklički aromatski ugljikovodici (engl. *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*; PAH) koji se mogu naći na površini ili u unutrašnjosti dimljenih proizvoda (Šimko 2002.; Özcan i sur. 2011.). Općenito je sadržaj benzo[a]pirena (BaP) dobar pokazatelj ukupne količine PAH-ova u hrani (EFSA, 2008.). No prikladniji pokazatelj rizika PAH-a u dimljenim prehrambenim proizvodima jest zbroj benzo[a]pirena, benzo[a]antracena, benzo[b]fluorantena i krizena, koji predstavljaju PAH4. Osim PAH4, koristan alat za procjenu rizika jest zbroj 8 PAH-ova koji se sastoje od PAH4 te benzo[k]fluorantena, benzo[g,h,i]perilena, dibenzo[a,h] antracena i indeno[1,2,3-c,d]pirena (EFSA 2008.).

Sadržaj PAH-a u dimljenoj hrani ovisi o nekoliko čimbenika i uvjeta, kao što su tehnologija dimljenja, sadržaj masti, vrsta drva za dimljenje, prisutnost kisika, vlaga i temperatura izgaranja (Šimko 2005.; Stumpe-Viksna i sur., 2008.; Gomes i sur., 2013.). Veće koncentracije PAH-a nađene su u tradicionalno dimljenim proizvodima od mesa u usporedbi s industrijski kontroliranim tehnologijama dimljenja (Roseiro i sur., 2011; Škrbić i sur., 2014.). Prema našim spoznajama, vrlo ograničeni podaci, ako ih ima, postoje u literaturi o sadržaju PAH-a i povezanim rizicima za tradicionalni dimljeni kuhani sir. Stoga je cilj ovoga rada bio proizvesti tradicionalni (ne)dimljeni kuhani

sir te procijeniti sadržaj 16 PAH-ova u gotovom proizvodu. To je učinjeno kako bi se utvrdio potencijalni rizik za potrošače tradicionalno dimljenog sira.

Materijal i metode

Za potrebe istraživanja proizvedene su po tri šarže kuhanog sira, dimljenog kuhanog sira, dimljenog kuhanog sira s ljutom paprikom i nedimljenog kuhanog sira s ljutom paprikom. Ukratko, proizvodni proces sastojao se od: jutarnje i večernje mužnje 5 L, pripreme i zagrijavanja mlijeka, dodavanja alkoholnog octa (50 mL), odvajanja grušća od sirutke, dodavanja soli i začina, stavljanja u kalupe, prešanja i formiranja kore, dimljenja i skladištenja (Čižmak i sur., 2018.).

Laboratorijske pretrage

Policiklički aromatski ugljikovodici

Uzorci sireva ekstrahirani su acetonitrilom i QuEChERS solima za ekstrakciju uz centrifugalno odjeljivanje. Ekstrakt se pročišćava drugim tipom QuEChERS soli, centrifugira i prebacuje u vialu za mjerenje na GCMS/MS instrumentu. PAH spojevi određivani su metodom plinske kromatografije uz detekciju pomoću spektrometra masa (GCMS/MS Thermo Scientific: Trace 1300 GC i TSQ 8000 Evo MS). Analiza plinskom kromatografijom radi se prema temperaturnom programu s početnom temperaturom od 60 $^{\circ}\text{C}$, nakon toga se u prvom koraku temperatura povećava 35 $^{\circ}\text{C/min}$ do 160 $^{\circ}\text{C}$. U drugom se koraku temperatura povećava brzinom od $3,5$ $^{\circ}\text{C/min}$ do 260 $^{\circ}\text{C}$, dok se u trećem koraku povećava brzinom od 15 $^{\circ}\text{C/min}$ pri kojoj se zadržava 15 minuta. Korištena je TG-55ILMS W/5m Safeguard (Thermo Scientific) kolona za odjeljivanje u plinskom kromatografu; pro-

mjera 0,25 mm; dužine 30 m i debljine filma 0,25 μ m. Injektor, izvor elektrona i detektor nalaze se na temperaturi 310 °C, 320 °C i 250 °C.

Pojedini PAH spojevi identificirani su i kvantificirani na temelju kvantifikacijskih i kvalifikacijskih iona (m/z): acenaftilen (152,1; 151,1); acenaften (153,1; 152,1); fluoren (165,1; 164,1); fenantren (178,1; 152,1); antracen (178,10; 152,1); fluoranten (202,1; 200,1); piren (202,10; 201,10); benzo[a]antracen (228,1; 226,1); krizen (228,1; 226,1); benzo[b]fluoranten (250,1; 252,1); benzo[k]fluoranten (250,1; 252,1); benzo[a]piren (250,1; 252,1); indeno[1,2,3-c,d]piren (276,1; 274,0); dibenzo[a,h]antracen (278,1; 276,0); benzo[g,h,i]perilen (276,1; 274,1).

Kemijski sastav sireva

Kemijski sastav određivan je standardnim normiranim metodama: sadržaj proteina Kjeldhalovom metodom (HRN ISO 1871:2017), ukupne masti modificiranom Soxhletovom metodom (HRN ISO 1443:1999 modif.), sadržaj vode sušenjem odmerene količine uzorka do konstantne mase, odnosno do povećanja mase uzorka (ISO 1142:1997 modif.), sadržaj pepela žarenjem na temperaturi oko 550 °C i mjerenju ostatka, a pepeo se izražava u postocima mase (HRN ISO 5984:2004 modif.). Za određivanje vlakana uzorak se u posebnim kapsulama, nakon odmašćivanja, prvo kuha u otopini sulfatne kiseline te se nakon ispiranja kuha i u otopini natrijeve lužine. Svrha je ovih procesa micanje nevlaknastih komponenti iz uzorka. Na kraju se kapsule spaljuju u mufolnoj peći (AOAC 978.10).

Statistička obrada

U statističkoj obradi rezultata korišten je program Microsoft Excel 2010. Rezultati su prikazani kao srednje vrijednosti \pm standardna devijacija, a t-testom određivana je statistička znakovitost ($P < 0,05$) razlika s obzirom na primjenu dima. Koeficijent korelacije R određivan je s obzirom na kemijski sastav i količinu PAH-a.

Rezultati i rasprava

U nedimljenim kuhanim sirevima utvrđeno je prosječno 17,84 \pm 2,46 % bjelančevina, 23,01 \pm 1,99 % masti, 46,62 \pm 13,09 % vlage, 1,11 \pm 0,24 % vlakana te 4,00 \pm 0,43 % pepela. Vrijednosti navedenih parametara u dimljenim kuhanim sirevima bile su 19,90 \pm 0,89 % ($P < 0,05$), 23,94 \pm 2,98 %, 47,80 \pm 4,31 %, 1,00 \pm 0,21 %, 3,95 \pm 0,76 i 3,95 \pm 0,76 %. Kako je vidljivo, nije bilo statistički znakovitih razlika osim u



Slika 1. Kuhani sir

sadržaju bjelančevina. Drugi autori navode slične podatke o pojedinim sastojcima u kuhanom siru uz očekivana odstupanja i razlike (22,62 % masti i 51,04 % vlage; Kirin, 2006.; 26 % masti, 48,85 % vlage, 17,89 % bjelančevina; Štefekov, 1990.; 46 – 50 % vlage, 24 – 27 % masti, 7 – 16 % bjelančevina, 2,7 – 3,2 pepela; Salopek, 2016.; 44 – 51 % vlage, 21 – 25 % masti, 19 – 2 % bjelančevina; Mišlov, 2015.).

Prosječna količina PAH spojeva u u nedimljenim i dimljenim uzorcima iznosila je 17,85 \pm 8,85 μ g/kg odnosno 311,765 \pm 269,2 μ g/kg ($P < 0,01$). Od 16 mjerenih PAH spojeva utvrđeni su naftalen, acenaftalen, fluoren, fenantren, fluoranten. U dva uzorka dimljenih sireva utvrđen je benz[a]antracen u niskim koncentracijama (0,359 μ g/kg i 0,166 μ g/kg). Koncentracija benzo[a]pirena bila je u svim uzorcima ispod granice kvantifikacije. Količina PAH spojeva bila je u pozitivnoj korelaciji s količinom masti u dimljenim sirevima ($R = 0,91$) te u negativnoj korelaciji s količinom vlage ($R = -0,87$). U literaturi su vrlo oskudni podaci o količinama pojedinih PAH spojeva u dimljenim sirevima, a u Hrvatskoj, prema našim podacima, ovo je prvi takav rad. Za dimljene sireve nisu ni regulirane MDK vrijednosti policikličkih aromatskih ugljikovodika. Općenito Mirdivani i suradnici (2019.) daju pregled važnosti PAH-ova u mlijeku i mliječnim proizvodima te ističu tek nekoliko istraživanja PAH-ova u dimljenim sirevima. Tako Guillén i suradnici (2011.), slično našim rezultatima, izvješćuju o vrlo niskim koncentracijama teških kancerogenih PAH spojeva (0,13 μ g/kg u nedimljenom siru i 0,22 – 1,54 μ g/kg u dimljenima). U tu skupinu pripada benz[a]antracen, jedini koji smo detektirali u dva uzorka, u koncentracijama u skladu s podacima navedenih autora (0,07 – 0,44 μ g/kg). U

pogledu benzo[a]pirena drugi autori izvješćuju o koncentracijama od 0,03 do 3,8 µg/kg (Mirdivani i sur., 2019.) ili njegovo odsutnosti (Riha i sur., 1992.) kao i u našem istraživanju. Razlike u koncentraciji štetnog benzo[a]pirena uvjetovane su tehnologijom dimljenja, a i pozicijom sireva u pušnici (Guillén i sur., 2011.). Također, Gul i suradnici (2015.) i Suchanová i suradnici (2008.) navode da industrijsko dimljenje rezultira manjom koncentracijom PAH spojeva u odnosu na tradicionalno dimljene sireve u domaćinstvima, no i te su dobivene vrijednosti ispod dopuštenih granica za, primjerice, dimljene mesne proizvode.

Zaključno, dobiveni rezultati upućuju na nizak rizik od unosa javnozdravstveno važnih PAH spojeva nakon konzumacije dimljenih kuhanih sireva iz domaćinstva.

Napomena

Sirevi korišteni u ovom radu uzorkovani su tijekom izrade diplomskog rada Anamarije Čižmak naslova *Utjecaj dimljenja i dodatka biljnog podrijetla na zdravstvenu ispravnost kuhanoga sira* (mentor: izv. prof. dr. sc. Nevijo Zdolec).

Literatura

- AMIRDIVANI, S., N. KHORSHIDIAN, M. GHOBADIDANA, R. MOHAMMADI, A. M. MORTAZAVIAN, S. L. QUITERIO DE SOUZA, H. BARBOSA ROCHA, R. RAICES (2019): Polycyclic aromatic hydrocarbons in milk and dairy products. *Int. J. Dairy Technol.* 72, 120-131.
- ČIŽMAK, A., J. GRBAVAC, N. ZDOLEC (2018): Utjecaj dimljenja i dodatka ljute paprike na mikrofluoru kuhanoga sira. *Hrvatski veterinarski vjesnik*, 26, 5/6, 34-39.
- EFSA (2008): Polycyclic hydrocarbons in food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. *The EFSA Journal*, 724, 1-114.
- FEINER, G. (2006): Meat products handbook: Practical science and technology. Cambridge, England: Woodhead Publishing.
- GOMES, A., C. SANTOS, J. ALMEIDA, M. ELIAS, L. C. ROSEIRO (2013): Effect of fat content, casing type and smoking procedures on PAHs contents of Portuguese traditional dry fermented sausages. *Food Chem. Toxicol.* 58, 369-374.
- GUILLÉN, M. D., G. PALENCIA, M. L. IBARGOITIA, M. FRESNO, P. SOPELANA (2011): Contamination of cheese by polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoking. Influence of the position in the smokehouse on the contamination level of smoked cheese. *J. Dairy Sci.* 94, 1679-1690.
- GUL, O., M. DERSIVOGLU, M. MORTAS, O. AYDEMIR, E. ILHAN, K. AKSEHIR (2015): Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons in Circassian cheese by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Food Compos. Anal.* 37, 82-86.
- KIRIN, S. (2006.): Domaći kuhani sir. *Mljekarstvo* 56, 45-58.
- MIŠLOV, M. (2015): Kemijski sastav i svojstva kuhanog sira s područja Slavonije. Diplomski rad, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek.
- OZCAN, T., A. AKPINAR-BAYIZIT, O. IRMAK SAHIN, L. YILMAZ-ERSAN (2011): The formation of polycyclic hydrocarbons during smoking process of cheese. *Mljekarstvo* 61, 193-198.
- RIHA, W. E., W. L. WENDORFF, S. RANK (1992): Benzo[a]pyrene content of smoked and smoked-flavored cheese products sold in Wisconsin. *J. Food Prot.* 55, 636-638.
- ROSEIRO, L. C., A. GOMES, C. SANTOS (2011): Influence of processing in the prevalence of polycyclic aromatic hydrocarbons in a Portuguese traditional meat product. *Food Chem. Toxicol.* 49, 1340-1345.
- SALOPEK, L. (2016): Kakvoća i mikrobiološka ispravnost kuhanog sira. Diplomski rad, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.
- STUMPE-VÍKSNA, I., V. BARTKEVIČS, A. KUKĀRE, A. MOROZOV (2008): Polycyclic aromatic hydrocarbons in meat smoked with different types of wood. *Food Chem.* 110, 794-797.
- SUCHANOVÁ, M., J. HAJŠLOVÁ, M. TOMANIOVÁ, V. KOCOUREK, L. BABIČKA (2008): Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked cheese. *J. Sci. Food Agric.* 88, 1307-1317.
- ŠIMKO, P. (2002): Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. *J. Chromatogr. B* 770, 3-18.
- ŠIMKO, P. (2005): Factors affecting elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat foods and liquid smoke flavorings. *Mol. Nutr. Food Res.* 49, 637-647.
- ŠKRBIĆ, B., N. ĐURIŠIĆ-MLADENović, N. MAČVANIN, A. TJAPKIN, Š. ŠKALJAC (2014): Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked dry fermented sausages with protected designation of origin *Petrovska klobasa* from Serbia. *Maced. J. Chem. Chem. En.* 33, 227-236.
- ŠTEFEKOV, I. (1990): Autohtoni bilogorsko-podravski «kuhani sir» - tradicija i proizvodnja. *Mljekarstvo*, 40, 227-234.